

ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТІВ СОБАЧОЇ КРОПИВИ

С.А.Данилов, С.Ю.Штриголь*, Д.І.Дмитрієвський**, А.М.Комісаренко**

Департамент регуляторної політики у сфері обігу лікарських засобів та продукції у системі охорони здоров'я МОЗ України
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету*
Національний фармацевтичний університет**

Ключові слова: собача кропива; черепно-мозкова травма; гіпоксія; пероксидне окиснення ліпідів

На моделі закритої черепно-мозкової травми в щурів оригінальний препарат собачої кропиви (суха настоянка) чинить церебропротекторний ефект за критеріями зменшення емоційно-стресових порушень, збільшення фізичної витривалості, покращення координації рухів, зменшення масового коефіцієнту головного мозку, що свідчить про його протинабрякову дію. За сукупністю показників досліджуваній препарат має переваги перед офіційною настоянкою собачої кропиви та стандартизованим екстрактом гінкго дволопатевого (білобілом). Суха настоянка собачої кропиви чинить у головному мозку щурів із моделлю черепно-мозкової травми помірний антиоксидантний ефект, офіційна настоянка та білобіл мають сильні антиоксидантні властивості. Суха настоянка собачої кропиви володіє антигіпоксичними властивостями на рівні білобілу, що може бути складовою церебропротекторного ефекту. Офіційна настоянка чинить антигіпоксичний ефект, який значною мірою зумовлений впливом етилового спирту.

Помітне збільшення частоти черепно-мозкових травм (ЧМТ) — основної причини інвалідизації і смертності населення віком від 20 до 40 років [8, 9] — зумовлює актуальність пошуку нових підходів до їх лікування, в тому числі фармакологічних. Привертає увагу церебропротекторний потенціал собачої кропиви (пустырника) — рослини, відомої седативними властивостями. На моделі оклюзії середньої мозкової артерії препарат собачої кропиви зменшує пошкодження тканин, неврологічні порушення і ступінь окиснювальної модифікації ДНК, знижує рівень проапоптотичних

білків і збільшує — антиапоптотичних [15]. Порушення мозкового кровообігу має чимало спільних патогенетичних рис із ЧМТ [12], і можна очікувати, що препарати собачої кропиви здатні зменшувати пошкодження головного мозку при ЧМТ. На фармацевтичному ринку України наявна настоянка собачої кропиви (НСК). Вона містить етиловий спирт, що обмежує можливості його використання. Нами створено так звану суху настоянку собачої кропиви (СНСК), в якій етанол замінено на суху допоміжну речовину: сахарозу, маніт, сорбіт, глюкозу та інші моно- і дицукри або

декстрини [3]. За седативними властивостями СНСК перевершує НСК і має додаткові переваги: покращує пам'ять і фізичну витривалість [2]. Мета даного дослідження — визначити вплив препаратів собачої кропиви на перебіг гострої експериментальної травматичної хвороби мозку за критеріями рухової та дослідницької активності, стану м'язового тону та координації рухів, фізичної витривалості, впливу на пероксидне окиснення ліпідів, а також на чутливість головного мозку до гіпоксії.

Матеріали та методи

Дослідження проводились на 38 білих самцях щурів масою 150-190 г. ЧМТ середнього ступеня тяжкості відтворювали під легким ефірним наркозом шляхом дозованого удару по тім'янопотиличний ділянці вантажем масою 0,0495 кг з енергією 0,315 Дж [4]. Тварин розділили на 5 груп: 1 — інтактний контроль (ефірний

С.А.Данилов — лікар, здобувач, заступник директора Департаменту регуляторної політики у сфері обігу лікарських засобів та продукції у системі охорони здоров'я МОЗ України (м. Київ)

С.Ю.Штриголь — доктор медичних наук, професор кафедри технології ліків та клінічної фармакології з фармацевтичною опікою Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Д.І.Дмитрієвський — доктор фармац. наук, професор кафедри заводської технології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Таблиця 1

Вплив препаратів кропиви собачої та білобілу на показники поведінкових та емоційних реакцій за тестом “відкритого поля” у щурів через 48 год після моделювання закритої черепно-мозкової травми середньої тяжкості (M±m)

Показники (за 3 хв)	Інтактний контроль, n = 8	Черепно-мозкова травма			
		контрольна патологія, n = 8	собача кропива		білобіл (100 мг/кг), n = 7
			суха настояйка (2,5 г/кг), n = 6	офіційна настояйка (2,5 г/кг), n = 8	
Локомоторна активність (перетнуто квадратів)	29,8±3,47	20,4±4,21	24,5±3,23	24,5±3,09	20,1±2,23*
Орієнтовно-дослідницька активність: — стійки — отвори — сума	9,25±1,12 8,13±0,86 17,4±1,73	5,00±0,62* 6,00±1,11 11,0±1,74*	7,00±0,96 8,50±1,29 15,5±1,92	5,25±0,99* 4,75±0,87* 10,0±2,35*	5,86±0,56* 6,29±0,55 11,1±1,11*
Емоційні реакції: — грумінг — болюси — уринації — сума	1,38±0,37 0,25±0,12 0,75±0,24 2,38±0,37	1,50±0,61 1,13±0,49 0,63±0,12 3,25±1,11	1,00±0,32 0,33±0,32 0,16±0,15**/**** 1,50±0,48***	1,63±0,25 0,25±0,12 0,88±0,24 2,75±0,25	1,00±0,41 1,29±0,42 */**** 0,71±0,28 3,14±0,97
Сума всіх видів активності	49,5±3,59	34,9±4,58*	41,5±5,00	37,3±5,45	34,3±2,79*

Примітка: статистично значущі відмінності (p<0,05): * — з інтактним контролем; ** — із показником контрольної патології; *** — із показником тварин, які отримували офіційну настояйку.

наркоз без ЧМТ), 2 — контрольна патологія (модель ЧМТ), 3 — тварини з моделлю ЧМТ, яким вводили СНСК на сахарозі, 4 — щури з моделлю ЧМТ, що отримували НСК (ВАТ “Фітофарм”, м. Артемівськ), 5 — тварини з моделлю ЧМТ, яким вводили препарат порівняння стандартизованого екстракт гінкго дволопатевого (білобіл, KRKA, Словенія). СНСК і НСК вводили в дозі 2,5 мг/кг, яка забезпечує седативну дію [2], білобіл — у церебропротекторній дозі 100 мг/кг, що використовується в експерименті при порушенні мозкового кровообігу [14]. Препарати вводили в шлунок в лікувально-профілактичному режимі протягом 3 діб (востаннє за 30 хв до ЧМТ) та 2 доби після нього. Через 48 год після відтворення ЧМТ, коли значно виражене пошкодження тканини мозку [4], визначали поведінку тварини за тестом відкритого поля, фізичну витривалість у тесті плавання з навантаженням 20% від маси тіла, координацію рухів і м'язовий тонус за тестом стрижня, що обертається зі швидкістю 10 об/хв [1]. З урахуванням впливу чинника часу на показники поведінко-

вих тестів дослідження в усіх групах виконували синхронно. Далі щурів декапітували під тіопенталовим наркозом, вилучали та зважували головний мозок, визначаючи його масовий коефіцієнт.

Стан пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту в головному мозку визначали за вмістом ТБК-реактивності і активністю каталази в гомогенаті органу [10].

Оскільки важливою патогенетичною ланкою церебральної недостатності, в т.ч. при ЧМТ є гіпоксія, вивчали ефективність препаратів собачої кропиви на моделі нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією, яку відтворювали за допомогою гермокамери об'ємом 200 см³ [6]. Антигіпоксичну дію оцінювали за тривалістю життя мишей. Для вивчення можливої участі етанолу в ефекті НСК додатково сполукою порівняння в даному досліді слугував спирт етиловий 70% в дозі 2,5 г/кг, що еквівалентно його кількості в складі НСК.

Статистичну обробку результатів виконували з використанням критеріїв t Стьюдента, W

Уайта та кутового перетворення Фішера.

Результати та їх обговорення

Загибель тварин із моделлю ЗЧМТ середньої тяжкості не спостерігалась, за виключенням одного щура, який отримував білобіл (наприкінці другої доби). Як свідчить табл. 1, у тесті “відкритого поля” у тварин групи контрольної патології спостерігалась чітка тенденція (p>0,05) до зниження рухової активності на 31,5%, статистично значуще зменшення показників орієнтовно-дослідницької реакції (особливо за рахунок стійок) і суми всіх видів активності. При цьому прослідковувалась тенденція до збільшення показників емоційних реакцій та їх вегетативного супроводу, перш за все кількості фекальних болюсів (у 4,5 рази).

Білобіл ніяк не вплинув на результати тесту “відкритого поля” у тварин із ЧМТ, які залишилися на рівні контрольної патології. Більше того, зниження рухової активності порівняно з інтактним контролем виявилось статистично значущим за рахунок

Таблиця 2

Вплив препаратів кропиви собачої та білобілу на координацію рухів і фізичну витривалість щурів через 48 год після моделювання закритої черепно-мозкової травми середньої тяжкості ($M \pm m$)

Показники	Інтактний контроль, n = 8	Черепно-мозкова травма			
		Контрольна патологія, n = 8	собача кропива		білобіл (100 мг/кг), n = 7
			суха настойка (2,5 г/кг), n = 6	офіційна настойка (2,5 г/кг), n = 8	
М'язовий тонус і координація рухів (тест стрижня, що обертається)					
Кількість тварин, що впали					
— до 30 с	1 (12,5%)	6 (75%)*	1 (16,7%)**/**	6 (75%)*	3 (42,9%)
— 30 с — 1 хв	2 (25%)	1 (12,5%)	2 (33,3%)	2 (25%)	2 (28,6%)
— пізніше 1 хв	5 (62,5%)	1 (12,5%)*	3 (50%)	0*	2 (28,6%)
Фізична витривалість (примусове плавання з навантаженням)					
Час плавання до виснаження, с	42,1±2,48	28,4±3,22*	43,7±2,42**	39,3±5,20	36,9±2,09**

Примітка: статистично значущі відмінності ($p < 0,05$): * — з інтактним контролем; ** — із показником контрольної патології; *** — із показником тварин, які отримували офіційну настойку.

меншої дисперсії показників, а емоційне збудження, про яке свідчить вірогідне зростання кількості фекальних болюсів, було значно вираженим (табл. 1). НСК зменшувала рухову загальмованість щурів із ЧМТ та усувала емоційне збудження, проте всі показники орієнтовно-дослідницької активності (кількість стійок, обстежених отворів і їхня сума) залишалися вірогідно зниженими порівняно з інтактним контролем. СНСК максимально редукувала поведінкові порушення, в т.ч. з боку орієнтовно-дослідницької активності та емоційних реакцій (табл. 1): за жодним показником не відмічено статистично значущих відмінностей з інтактним контролем. Таким чином, оригінальний препарат собачої кропиви в новій лікарській формі максимально редукував неврологічний дефіцит, що підтверджується вивченням впливу на м'язовий тонус і координацію рухів (табл. 2).

Як видно з табл. 2, в групах контрольної патології і тварин із ЧМТ, які отримували НСК, кількість щурів, що не втрималися на обертовому стрижні, була максимальною та вірогідно перевищувала таку в інтактному контролі. Білобіл зменшував ці порушення, усуваючи статистично значущі від-

мінності. Найкращі результати спостерігалися на тлі СНСК: координація рухів у тварин даної групи була вірогідно краще, ніж у групі, що отримувала НСК.

Щодо фізичної витривалості, то у групі контрольної патології вона значно зменшувалася (час примусового плавання з навантаженням скорочувався в середньому на 32,5%, $p < 0,05$). На тлі білобілу цей показник достовірно зростає, НСК за рахунок великої дисперсії показника (від 20 до 62 с) не забезпечила вірогідного зростання фізичної витривалості щурів із ЧМТ. СНСК повністю відновлювала досліджуваний по-

казник до рівня інтактних щурів (табл. 2).

Масовий коефіцієнт головного мозку щурів групи контрольної патології сягав $1,17 \pm 0,04\%$ проти $1,11 \pm 0,04\%$ в інтактних тварин ($p > 0,05$), що вказує на типовий для ЧМТ набряк-набухання мозку (рис.). Тільки на тлі СНСК цей показник вірогідно зменшувався до $1,06 \pm 0,034\%$ ($p < 0,05$ порівняно з групою контрольної патології), що свідчить про протинабрякову дію оригінального препарату собачої кропиви. В групах СНК і білобілу коефіцієнт становив відповідно $1,11 \pm 0,06\%$ і $1,09 \pm 0,05\%$ ($p > 0,05$).

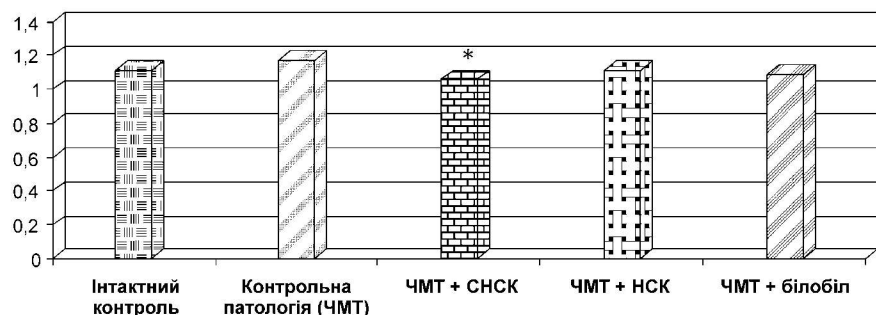


Рис. Вплив препаратів собачої кропиви та білобілу на масовий коефіцієнт головного мозку щурів через 24 год після моделювання закритої черепно-мозкової травми середньої тяжкості.

По осі ординат — масовий коефіцієнт, %. ЧМТ — черепно-мозкова травма, СНСК — суха настойка собачої кропиви, НСК — настойка собачої кропиви.

Примітка: * — статистично значущі відмінності порівняно з групою контрольної патології ($p < 0,05$).

Таблиця 3

Порівняльний вплив препаратів собачої кропиви та білобілу на вміст ТБК-реактантів і активність каталази в головному мозку щурів із моделлю черепно-мозкової травми, кінець другої доби (M±m)

Група тварин	Вміст ТБК-реактантів, мкмоль/г	Активність каталази, мкат/г
Інтактний контроль (n = 8)	259±20,5	2,17±0,29
Контрольна патологія — ЧМТ (n = 8)	358±31,4*	2,91±0,05*
СНСК + ЧМТ (n = 5-6)	285±32,1**	3,09±0,04**/**
НСК + ЧМТ (n = 8)	182±24,4*/**/****	3,20±0,09**/**
Білобіл + ЧМТ (n = 6-8)	175±26,3*/**/****	2,25±0,21**/**/****

Примітка: ЧМТ — черепно-мозкова травма, СНСК — суха настойка собачої кропиви, НСК — настойка собачої кропиви. Статистично значущі відмінності (p<0,05): * — з інтактним контролем; ** — із показником контрольної патології; *** — із показником тварин, які отримували СНСК, **** — із показником тварин, які отримували НСК.

Таблиця 4

Порівняльний вплив препаратів собачої кропиви, спирту етилового та білобілу на тривалість життя мишей за умов нормобаричної гіпоксичної гіпоксії із гіперкапнією (M±m)

Група тварин	n	Час життя, хв
Контроль (гіпоксія)	12	17,7±0,62
Суха настойка собачої кропиви (2,5 г/кг) + гіпоксія	7	20,3±0,96*
Офіційна настойка собачої кропиви (2,5 г/кг) + гіпоксія	7	22,7±0,95*
Спирт етиловий 70% (2,5 г/кг) + гіпоксія	5	25,5±1,38**/**
Білобіл (100 мг/кг) + гіпоксія	10	20,3±0,57*

Примітка: статистично значущі відмінності (p<0,05): * — з інтактним контролем; ** — із показником тварин, які отримували суху настойку.

Отже, за сукупністю критеріїв СНК виявила лікувальні властивості при ЧМТ. Офіційна НСК майже не чинила церебропротекторного ефекту, а білобіл не усував поведінкові та емоційні порушення, і його ефект обмежувався покращенням координації рухів і фізичної витривалості.

У церебропротекторному ефекті СНСК може брати участь як сукупність біологічно активних речовин собачої кропиви, так і допоміжна речовина — сахароза — додаткове джерело енергії для головного мозку. Щодо механізмів церебропротекторної дії, не можна виключити антиоксидантний вплив. За здатністю зв'язувати 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразильний радикал рідкий екстракт *Leonu-*

rus cardiaca переважає екстракти *Ginkgo biloba* і *Crataegus monogyna* [11, 16]. НСК чинить більш значний антиоксидантний ефект (за зв'язуванням 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразильного радикалу та пригніченням взаємодії пероксинітриту з тирозином) порівняно з настійкою глоду, що значною мірою зумовлено рутином. Виявлено високу хелатуючу здатність препарату надземної частини *L. Cardiaca* [13].

ЧМТ супроводжувалась активацією ПОЛ у головному мозку: вміст ТБК-реактантів у групі контрольної патології вірогідно збільшився на 38% (табл. 3). Подібні зміни спостерігали інші автори [4, 7]. Всі досліджувані препарати вірогідно усували активацію

ПОЛ у головному мозку щурів із ЧМТ: на тлі СНСК вміст ТБК-реактантів майже не відрізнявся від такого в інтактному контролі, а під впливом НСК і білобілу навіть був на 30-32% нижче (p<0,05). Щодо активності каталази, то вона статистично значуще зростала в групі контрольної патології (очевидно, компенсаторно) та ще більше — під впливом обох препаратів собачої кропиви (p<0,05 відносно контрольної патології). Виключення становили тварини групи білобілу, в яких активність ферменту залишалася на рівні інтактного контролю. Отримані результати відрізняються від відомих із літератури, які вказують на зменшення активності каталази в щурів із модельною ЧМТ [4, 7]. Це може бути пов'язано з різною тяжкістю та періодизацією модельної патології. Проте значний антиоксидантний ефект НСК сполучався з погіршенням координації рухів і не супроводжувалося вірогідним покращенням фізичної витривалості в тесті плавання з навантаженням, а білобіл, пригнічуючи ПОЛ, не зменшував поведінкові та емоційно-вегетативні порушення в тесті відкритого поля. СНСК, незважаючи на помірні антиоксидантні властивості, краще за обидва препарати порівняння відновлював всі зазначені порушення та вірогідно зменшував масовий коефіцієнт головного мозку, що свідчить про протинабрякову дію. Таким чином, антиоксидантний вплив не є єдиним механізмом церебропротекторного ефекту. Останній може бути пов'язаний також з антигіпоксичними властивостями препаратів.

Як видно з табл. 4, СНСК чинить антигіпоксичну дію, що підтверджується вірогідним збільшенням тривалості життя тварин за умов модельної гіпоксії на 14,6%. Такий самий ефект виявив білобіл, якому СНСК не поступалася. Ще виразнішу антигіпоксичну дію демонструвала НСК, на тлі якої час життя зростав у середньому на 28,2%. Привертала увагу майже повна відсутність рухового збудження в гермокамері в мишей,

що одержували НСК. Це дозволило припустити, що збільшення стійкості до гіпоксії на тлі НСК певною мірою може бути пов'язано зі специфічним ефектом етилового спирту або зі зменшенням потреби в кисні за рахунок меншої фізичної активності. Для перевірки даної гіпотези дії гіпоксії піддали мишей, яким попередньо вводили 70% спирт етиловий у кількості, що відповідає його вмісту в дозі НСК. Тривалість життя цих тварин за гіпоксії зросла в середньому на 44% відносно контролю ($p < 0,05$), що доводить участь етанолу в антигіпоксичному ефекті. Останнє підтверджується даними літератури. Етанол у низьких дозах подібно до гіпоксії обмежує електронотранспортну функцію мітохондріального дихального ланцюга на рівні першого ензиматичного комплексу, що інгібує окиснення піридин-залежних субстратів, викликає обме-

ження НАД-залежної частини дихального ланцюга і синтезу АТФ під час окиснювального фосфорилування. Низькі дози етанолу або утримання щурів в умовах помірної гіпоксії підвищують витривалість до гострої гіпоксичної гіпоксії [5].

Отже, за сукупністю показників СНСК чинить церебропротекторну дію на моделі ЧМТ, що вдало доповнює седативну дію досліджуваного препарату.

ВИСНОВКИ

1. На моделі закритої черепно-мозкової травми середнього ступеня тяжкості в щурів суха настоячка собачої кропиви чинить церебропротекторний ефект за критеріями зменшення емоційно-стресових порушень у тесті відкритого поля, збільшення фізичної витривалості за тестом плавання з навантаженням, покращення координації рухів у тесті стрижня, що обертається, змен-

шення масового коефіцієнту головного мозку, що вказує на протинабрякову дію. За сукупністю показників досліджуваній препарат має переваги перед офіційною настоячкою собачої кропиви та стандартизованим екстрактом гінкго дволопатевого (білобілом).

2. Суха настоячка собачої кропиви чинить у головному мозку щурів із моделлю черепно-мозкової травми помірний антиоксидантний ефект, офіційна настоячка собачої кропиви та білобіл демонструють сильні антиоксидантні властивості.

3. Суха настоячка собачої кропиви володіє антигіпоксичними властивостями на рівні білобілу, що може бути складовою інтегрального церебропротекторного ефекту. Офіційна настоячка собачої кропиви чинить антигіпоксичний ефект, який значною мірою зумовлений впливом етилового спирту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения.* — М.: Высш. шк., 1991. — 401 с.
2. Данилов С.А., Штриголь С.Ю., Дмитрієвський Д.І., Комісаренко А.М. // *Актуальні проблеми сучасної медицини.* — 2011. — Т. 11, вип. 2 (34). — С. 19-22.
3. Дмитрієвська І.Д., Данилов С.А., Дмитрієвський Д.І. та ін. // *Укр. журн. клінічної та лабораторної медицини.* — 2011. — Т. 6, №2. — С. 4-8.
4. Ельський В.Н., Зяблицев С.В. *Моделирование черепно-мозговой травмы.* — Донецк: Изд-во "Новый мир", 2008. — 140 с.
5. Корнеев А.А., Комиссарова И.А. // *Известия РАН. — Сер. биол.* — 1993. — №6. — С. 859-865.
6. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У.Хабриева.* — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: ОАО "Изд-во "Медицина", 2005. — 832 с.
7. Садовник О.В. *Фармакотерапевтична ефективність корвітину при травматичному пошкодженні головного мозку: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук: спец. 14.03.05 "Фармакологія".* — Х., 2011. — 20 с.
8. Царенко С.В., Крылов В.В. // *Неврол. журн.* — 2005. — №2. — С. 9-13.
9. Шагин Е.И. // *Медицина неотложных состояний.* — 2009. — №2 (21). — С. 40-48.
10. Щербань Н.Г., Горбач Т.В., Гусева Н.Р. и др. *Лабораторные методики для изучения состояния антиоксидантной системы организма и уровня перекисного окисления липидов: Метод. реком. для докторантов, аспирантов, магистров, исполнителей НИР.* — Х.: ХГМУ, 2004. — 36 с.
11. Bernatoniene J., Kucinskaite A., Masteikova R. et al. // *Acta Pol. Pharm.* — 2009. — Vol. 66, №4. — P. 415-421.
12. Bramlet H.M., Dietrich W.D. // *Медицина неотложных состояний.* — 2006. — №4 (5). — С. 32-42.
13. Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.M., Nabavi S.F. // *Pak. J. Biol. Sci.* — 2009. — Vol. 12, №12. — P. 934-938.
14. Koh P.O. // *Am. J. Chin. Med.* — 2011. — Vol. 39, №2. — P. 315-324.
15. Loh K.P., Huang S.H., Tan B.K., Zhu Y.Z. // *J. Ethnopharmacol.* — 2009. — Vol. 125, №2. — P. 337-343.
16. Masteikova R., Muselik J., Bernatoniene J. et al. // *Ceska Slov. Farm.* — 2008. — Vol. 57, №1. — P. 35-38.

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. Тел. (57) 766-92-06. Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.09.2011 р.